

昆虫の生産するフィブロインに関する研究 I

——ミノガ (*Clania variegata*) 及びルリチウレンジ (*Arge similis*)
の絹糸のアミノ酸組成について——

陶山好夫・川村史郎

(昭和51年9月30日受理)

Studies on the Silk Fibroins of Insects I.

Amino Acid Composition of Silk Fibroins from a Moth
(*Clania variegata*) and a Sawfly (*Arge similis*)

Yoshio SUYAMA and Shirô KAWAMURA

SUMMARY

Fibroins from the bag of a bag-worm moth (*Clania variegata*) and the cocoon of a sawfly (*Arge similis*) were hydrolyzed by acid under nitrogen atmosphere, and those amino acids composition were analyzed.

From the results, the total recovery of amino acids was 85.7% in the case of bag-worm moth, and 86.9% in the saw-fly.

In the fibroin of bag-worm moth, the molar ratios of glycine and alanine were nearly equal, and the sum of these two exceeded 70%. The molar content of serine was a tenth of the sum of glycine and alanine, and was next to these two.

In the case of the saw-fly, the molar contents of amino acids were abundant in the order of alanine, glutamic acid (probably glutamine), serine and leucine. Total moles of alanine and glutamine reached up to 70%. And serine content was a tenth of those total moles. And leucine is a half of serine.

は じ め に

昆虫類 (*Insecta*) ではかなり多くの目で絹糸を生産すること知られており、実用上の理由からカイコガ (*Bombyx mori*) 及びヤマモリガ科 (*Saturniidae*) の生産する絹についてはよく研究されている。またかなりの数の鱗翅目 (*Lepidoptera*) の生産する絹糸フィブロインについて、そのアミノ酸組成が調べられている¹⁾⁻⁷⁾。これらの他に脈翅目 (*Neuroptera*)⁸⁾、膜翅目 (*Hymenoptera*)⁹⁾¹⁰⁾¹¹⁾、鞘翅目 (*Coleoptera*)¹⁰⁾ の生産する絹糸についてもそのアミノ酸組成が報じられており、その中でも膜翅目 (*Hymenoptera*)、ハバチ科 (*Tenthredinidae*) にはコラーゲン類似の絹をつくるものや¹¹⁾、70%近くがグリシンであるような絹をつくるものが知られている¹⁰⁾。

一方、蛛形類 (*Arachnoidea*) にも糸を紡ぐものがあり、蜘蛛目 (*Araneae*) の糸のアミノ酸組成も知られているが、¹⁾¹²⁾¹³⁾¹⁴⁾ 最近、海産¹⁵⁾ 及び陸棲¹⁶⁾ の擬蠍目 (*Pseudoscorpionida*) の巢の絹が分析され、フィブロインとケラチンの進化の過程でのつなぎ目ではないかと推定した報告がな

されている¹⁵⁾。

硬蛋白質の相互関係、及び構造蛋白質との関連を解明する研究の一環として、フィブロイン研究の手始めに、今回ミノガ科 (*Psychidae*) のオオミノガ (*Clania variegata*)、及びミフシハバチ科 (*Argidae*) のルリチウレンジ (*Arge similis*) の絹の分析を行ったのでその結果を報告する。

材料及び方法

オオミノガ (*Clania variegata*) のミノは、神戸市の野外で採集したもので、胸節背板の紋様より種の同定を行ったが、尚、専門家の同定を必要とすると考えている。

ルリチウレンジ (*Arge similis*) は、生田校舎内で幼虫を採集、ツツジの葉で飼育し、蛹化したもののマユを使用した。

いずれの場合も付着しているゴミなどをピンセットで除去した後、多量の脱イオン水中で約2時間煮沸して可溶物を除去し、水洗、風乾後デシケーターに保存したものを試料として用いた。

アミノ酸分析は、2mg から 4mg の試料を 6N HCl 4ml を用い、窒素置換後封管し 105℃ で 24, 48, 72時間それぞれ加水分解し、その加水分解物を減圧濃縮乾固し、一定量の緩衝液で希釈したものを、アミノ酸自動分析器 (日本電子製 5AH 型) で分析した。

結果及び考察

分析の結果をショート・カラム、ロング・カラムの溶出順に表示すると、第Ⅰ表の如くなる。

第Ⅰ表の中に X₁, X₂, X₃ と示されているものは、未知のアミノ酸である。X₁ と X₃ は、弱塩基性または ω-アミノ酸か、分子量の大きな中性アミノ酸、X₂ は、酸性アミノ酸ではないかと考えているが、ロイシンと見なして換算・定量をおこなった。その結果を試料 1g あたりのマイクロモル数、及び mg 数で示したのが第Ⅰ表であるが、アミノ酸としての回収率は、オオミノガで 85.7%, ルリチウレンジで 86.9% あった。

アンモニアのモル数から考えると、アスパラギン酸、グルタミン酸の遊離のカルボン酸はすべてアミド化されているとみなしてよい。また、カイコのフィブロインは 1g あたり約10マイクロモルのシスチンを含むと報告されているが、¹⁷⁾¹⁸⁾ いずれのフィブロインにもシスチンは検出されなかった。しかし、X₂ はその溶出位置からシステイン酸とも考えられるから、すべてのシスチンが酸化されたと考えるなら、オオミノガではカイコの倍量、ルリチウレンジではほぼ等量シスチンが含まれていたことになる。ただし、システイン酸のニンヒドリン発色はかなり低いはずであるから更に補正を必要とすると考えられる。

X₃ は何回かの測定値から、酸加水分解にかなり不安定なようであり、溶出位置からは γ-アミノ酪酸とも考えられるが、不安定なことからむしろトリ・チロシンではないかと考えている。ジ・チロシンはサクサン (*Antheraea Pernyi*) の絹糸中に g あたり 10mg 位含むと報じられてい

Table I Amino Acid Composition of the Fibroins of Cocoon

	A Moth, <i>Clania variegata</i>		A Sawfly, <i>Arge similis</i>	
	$\mu\text{M/g}$ Fibroin	mg/g Fibroin	$\mu\text{M/g}$ Fibroin	mg/g Fibroin
X ₁	47.8*	(6.27)	21.6*	(2.83)
Lys	233.9	34.19	65.8	9.62
His	34.4	5.34	78.3	12.15
NH ₃	596.9	10.17	2398.8	40.85
Arg	58.1	10.12	38.3	6.67
X ₂	19.0*	(2.49)	29.0*	(3.80)
Asp	294.0	39.13	66.8	8.89
Thr	194.0	23.18	67.2	8.80
Ser	628.8	66.08	495.6	92.08
Glu	259.9	38.23	2516.1	370.19
Pro	209.8	24.15	74.5	8.58
Gly	3173.5	238.23	116.5	8.75
Ala	2939.4	261.87	2915.4	259.73
Cys/2	—	—	—	—
Val	223.6	26.19	138.3	16.20
Met	5.9	0.88	20.2	3.01
Ile	62.9	8.25	63.8	8.37
Leu	213.0	27.94	213.0	27.94
Tyr	102.5	18.57	56.5	10.24
Phe	36.3	6.00	33.8	5.58
X ₃	77.2	(10.13)	45.3*	(5.94)
Recovery		857.41		869.42

*: Leu value

るが¹⁹⁾、表には示さなかったが、ルリチウレンジは 1g あたり 4 マイクロモル位のジ・チロシンと考えられるピークを検出する事もあるが、オオミノガでは検出されなかった。むしろいずれの試料にも X₃ がかなり多く含まれていた。これが、トリ・チロシンであるかどうかは目下検討中である。

今回測定したオオミノガのフィブロイン加水分解物中のアミノ酸組成をミノガ科の 2 種について測定されたアミノ酸組成^{11,2)} またルリチウレンジについてはすでにしられているミフシハバチ科の 3 種¹⁰⁾ と比較表示すると第Ⅱ表のようになる。

まず、ミノガ科ではモル比で、グリシンとアラニンの合計が 70% をこえ、かつほぼ等モルであり、その次に多く含まれるアミノ酸はセリンであった。セリンは、モル比でグリシンとアラニンの合計の $\frac{1}{7}$ から $\frac{1}{10}$ 量含まれ、そしてグリシン、アラニン以外のアミノ酸の内でも多く含まれるアミノ酸の 2 倍以上は含まれていた。このことは他の鱗翅目で見出されている次に示すような 5 種類のアミノ酸配列の組合せではないかと考えられる。

1. —G→G→G→G→G→G—
2. —A→A→A→A→A→A—

Table II Amino Acid Composition of Silk Fibroins
(estimated amino acid residue numbers per 1000 residues)

	<i>Psychidae, Lepidoptera</i>			<i>Argidae, Hymenoptera</i>			
	A	B*	C**	D	E**	F**	G**
Lys	27	19	21	9	12	13	5
His	4	3	2	11	6	12	6
NH ₃	(69)	(59)	—	(345)	(309)	(356)	(350)
Arg	7	11	6	6	8	14	5
Asp	34	29	29	10	13	16	22
Thr	23	17	18	10	25	13	5
Ser	73	104	107	71	82	121	91
Glu	30	27	27	362	331	361	363
Pro	24	10	18	11	17	—	—
Gly	366	370	341	17	21	21	22
Ala	339	338	372	419	409	362	382
Val	26	17	23	20	25	21	19
Met	1	—	1	3	1	—	—
Ile	7	13	7	9	12	9	19
Leu	25	9	7	31	28	29	41
Tyr	12	32	16	8	10	12	12
Phe	4	2	5	5	—	4	—

A : *Clania variegata*

D : *Arge similis*

B : *Clania sp.*

E : *Arge usulata*

C : *Canaphora asiatica*

F : *Pachylota audouinii*

G : *Digelansinus diversipes*

* F. Lucas, J.T.Bhaw and S.G. Smith, J. mol. Biol., (1960), 2, 339.

** F. Lucas, and K. M. Rudall, in Comprehensive Biochem., (1968), 268, 475.

3. —G→A→G→A→G→A— Gly : G

4. —S→G→A→G→A→G— Ala : A

5. —S→G→A→S→G→A— Ser : S

このことは, Lucas et al.⁴⁾のヤママユの絹の部分分解物から得られたアミノ酸配列から推定したわけであるが, ミノガについても同様な試みをする事が必要であろう。

ミフシハバチ科の場合は知られている3種の絹も, ルリチウレンジの場合も, 構成アミノ酸はアラニン, グルタミン, セリン, ロイシンの順であり, かつアラニンとグルタミンの合計モル数は全体の70%をこえる, さらに, セリンはそれらの合計の $\frac{1}{6}$ から $\frac{1}{10}$ で, ロイシンはセリンの半分以下である。

しかし, これらの絹を合成しうる m-RNA の塩基組成について考えてみると, たとえば, グリシン・アラニンの繰りかえしである絹の蛋白質合成情報の一例をあげて見ると, GGC—GCA—GGC—GCAが考えられ, その塩基の始めを読み落すと, GCG—CAG—GCG—CAGとなる。これはまさしく Ala—Gln の繰りかえしである蛋白質合成の情報となる。このような情報変換が

何時の時点でおこり、どのようにして固定されたかという問題は非常に興味ある課題であるが、尚、多くのデータの蓄積をもとに追求することが必要であると考える。

- 1) F. Lucas, J. T. B. Shaw and S. G. Smith, *J. Mol. Biol.*, (1960), **2**, 339.
- 2) W. A. Schroeder and L. M. Key, *J. Am. Chem. Soc.*, (1955), **77**, 3908.
- 3) J. Kirimura, *Bull. Sericult. Expt. Sta. (Tokyo)*, (1962), **17**, 447.
- 4) F. Lucas, J. T. B. Shaw and S. G. Smith, *Advan. Protein Chem.*, (1958), **13**, 107.
- 5) G. Duchâteau, M. Florkin and J. Leclercq, *Arch. Intern. Physiol. Biochem.*, (1960), **68**, 190.
- 6) F. Lucas, *Nature*, (1966), **210**, 952.
- 7) K. M. Rudall and W. Kenchington, *Ann. Rev. Entomol.*, (1971), **16**, 73.
- 8) F. Lucas, J. T. B. Shaw and S. G. Smith, *Nature*, (1957), **179**, 906.
- 9) M. Florkin and S. Bricteux-Grégoire, *Arch. Intern. Physiol. Biochem.*, (1961), **69**, 46.
- 10) F. Lucas and K. M. Rudall, in *Comprehensive Biochem.*, (1968), **268**, 475.
- 11) R. G. Spiro, F. Lucas and K. M. Rudall, *Nature (New Biol.)*, (1971), **231**, 54.
- 12) F. Lucas, *Discovery*, (1964), **54**, No. 1, 20.
- 13) F. G. Fischer and J. Brander, *Z. Physiol. Chem.*, (1960), **320**, 92.
- 14) D. B. Peakall, *J. Exptl. Zool.*, (1964), **156**, 345.
- 15) S. Hunt, *Comp. Biochem. Physiol.*, (1970), **34**, 773.
- 16) S. Hunt, *Biochem. Soc. Trans.*, (1973), **1**, 218.
- 17) Z. H. Zaidi and A. Robson, *Pak. J. Sci. Ind. Res.* (1971), **4**, 121.
- 18) C. Earland and S. P. Robins, *Int. J. Peptide protein Res.* (1973), **5**, 327.
- 19) D. J. Rauen, C. Earland and M. Littler, *Biochem. Biophys. Acta*, (1971), **251**, 96.